Suspensions colorées de Proteus

REF R30953601
R30953701
R30953801

FR

1. DOMAINE D'APPLICATION

Les suspensions colorées de Proteus sont destinées à la détection quantitative des anticorps spécifiques contre les antigènes rickettsiens dans le sérum, à des fins épidémiologiques et diagnostiques, dans le cadre de l'étude des rickettsioses (test de Weil-Felix).[1,2]

2. RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Le test exploite le fait que certaines souches de Proteus et certaines espèces de rickettsies ont des constituants somatiques communs. En conséquence, le sérum de patients atteints de certaines rickettsioses agglutine des suspensions de souches de Proteus.

3. PRINCIPE DE LA METHODE

Dans le test d'agglutination standard, le sérum dilué du patient est mélangé avec la suspension bactérienne. Si la quantité d'anticorps homologues est suffisante, ils agglutinent la suspension.

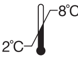
4. REACTIFS

COMPOSITION DU COFFRET

Suspensions colorées de Proteus		5 ml
Proteus OX2	SS16/R30953601	1 flacon compte-gouttes
Proteus OX19	SS17/R30953701	1 flacon compte-gouttes
Proteus OXK	SS18/R30953801	1 flacon compte-gouttes

DESCRIPTION, PREPARATION POUR UTILISATION ET CONDITIONS DE CONSERVATION RECOMMANDEES

Se référer également au paragraphe **Précautions et restrictions d'emploi**



Conservées entre 2 et 8°C à l'abri de la lumière, les suspensions gardent leur activité au moins jusqu'à la date inscrite sur le flacon.



Suspensions colorées de Proteus

Suspensions de type S (smooth) standardisées de bactéries inactivées (environ 10^{10} bactéries par ml) qui ont été colorées afin de faciliter la lecture des réactions d'agglutination. Conservateurs : formol (0,25%) et thiomersal (0,01%). Les suspensions sont disponibles en flacons équipés de tétines et de comptes-gouttes.

5. PRECAUTIONS ET RESTRICTIONS D'EMPLOI



Les réactifs sont destinés exclusivement au diagnostic *in vitro*.

Les réactifs sont réservés exclusivement à l'usage professionnel.

Pour de plus amples informations sur les composants potentiellement dangereux, se référer à la fiche de sécurité fournie par le fabricant et à l'étiquetage du produit.

INFORMATIONS DE SECURITE

1. L'équipement non jetable doit être stérilisé après emploi selon une procédure appropriée au choix, bien que la méthode recommandée soit la stérilisation par autoclave pendant au moins 15 minutes à 121°C. Le matériel à usage unique doit être stérilisé par autoclave ou incinéré.
2. Les éclaboussures de matériaux potentiellement infectieux doivent être éliminées immédiatement à l'aide de papier absorbant et les surfaces contaminées doivent être nettoyées avec un désinfectant antibactérien standard ou de l'alcool à 70%. Le matériel utilisé pour l'élimination des éclaboussures, y compris les gants, doit être éliminé comme s'il s'agissait de déchets biologiquement dangereux.
3. Ne pas effectuer de pipetages à la bouche. Pour manipuler les échantillons et effectuer le dosage, porter des gants à usage unique et des lunettes de protection. Une fois le test terminé, se laver soigneusement les mains.
4. Ces réactifs contiennent du thiomersal et du formol. Bien que leur concentration soit faible, ces 2 produits sont connus comme étant toxiques par ingestion et par contact avec la peau. Ne pas avaler les réactifs. Si l'un d'entre eux entre en contact avec la peau ou les yeux, laver la surface en rinçant immédiatement et abondamment à l'eau.
5. Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, il est fortement recommandé de traiter les échantillons et réactifs comme s'ils étaient potentiellement infectieux et de les manipuler avec toutes les précautions nécessaires.

PRECAUTIONS D'ANALYSE

1. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption indiquée. Eviter la contamination microbienne et sérologique, ceci pouvant provoquer des résultats erronés et réduire la durée de vie du produit.
2. Ne pas modifier la procédure du test ni le temps d'incubation ou les températures.
3. Amener toutes les suspensions et les échantillons à température ambiante (18 à 30°C) avant emploi. Après emploi, les replacer entre 2 et 8°C et à l'abri de la lumière.
4. Ne pas exposer les réactifs à une lumière forte pendant la conservation ou pendant l'incubation.
5. Veiller à ne pas provoquer de contamination croisée des réactifs.
6. Si la suspension devient de type R (rough) ou ne s'agglutine pas après exposition au sérum homologue spécifique, elle doit être jetée.
7. Les suspensions doivent être soigneusement agitées avant emploi afin d'assurer une suspension uniforme des organismes.

6. PRELEVEMENT, TRANSPORT ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS

PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

Des échantillons de sérum peuvent être utilisés. Laisser le sang prélevé par ponction veineuse coaguler naturellement. Vérifier avec soin que les échantillons de sérum sont complètement coagulés. Ne pas inactiver les échantillons sériques.

TRANSPORT ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS

Conserver les échantillons entre 2 et 8°C.

7. PROCEDURE

MATERIEL FOURNI

Voir le paragraphe **Composition du coffret**.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Sérum physiologique (0,85%) ou sérum physiologique additionné de phénol (0,25%).
2. Cartes de réaction blanches (RT04/R30368701).
3. Tubes à essai et portoirs.
4. Pipettes de 5 à 50 µl et 50 à 1 000 µl.
5. Bain-marie réglable.
6. Chronomètre.
7. Les sérums témoins suivants sont disponibles en flacons de 2 ml :

Proteus OX2	Réf. ZM14/R30165701
Proteus OX19	Réf. ZM15/R30165801
Proteus OXK	Réf. ZM16/R30165901

PROCEDURE DU TEST

A.Test rapide de dépistage

Etape 1 Déposer 2 gouttes (80 µl) de sérum non dilué dans un cercle de 3 cm de diamètre d'une carte de réaction blanche.

Etape 2 Après avoir agité le flacon, ajouter 1 goutte de la suspension appropriée à l'aide du compte-gouttes fourni.

Etape 3 Mélanger en remuant pendant quelques secondes et étaler sur toute la surface du cercle de la carte.

Etape 4 Faire osciller lentement la carte puis observer l'apparition éventuelle d'une agglutination au bout d'une minute exactement.

B.Titration rapide sur lame

Etape 1 A l'aide d'une pipette de 0,2 ml, distribuer 80, 40, 20, 10 et 5 µl de sérum non dilué dans une rangée de cercles de 3 cm de diamètre d'une carte de réaction blanche.

Etape 2 Bien agiter puis ajouter 1 goutte de la suspension appropriée dans chaque aliquot de sérum à l'aide du compte-gouttes fourni.

Etape 3 Homogénéiser en agitant pendant quelques secondes à l'aide d'un bâtonnet d'application en bois, en commençant par le mélange contenant 5 µl de sérum et en finissant par celui de 80 µl de sérum, en étalant le contenu sur toute la surface des cercles.

Etape 4 Faire osciller lentement la carte puis **observer l'apparition éventuelle d'une agglutination au bout d'une minute exactement**.

C.Test d'agglutination en tube

Etape 1 Préparer une série de dilutions de sérum pour chaque antigène à tester, comme indiqué au tableau 1, en utilisant du sérum physiologique pur ou additionné de phénol à 0,25% comme diluant. Mélanger le contenu du tube 1 et distribuer 1 ml dans le tube 2. Répéter l'opération pour chaque tube, jusqu'au tube 7 inclus et terminer en éliminant 1 ml du tube 7.

Tableau 1

Tube nº	1	2	3	4	5	6	7	8
Diluant (ml)	1,9	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Sérum de patient (ml)	0,1	Dilutions sérielles de 1 ml →						0
Dilution finale	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	Témoin

Etape 2 Bien agiter puis ajouter 1 goutte de la suspension appropriée dans chaque tube d'une rangée donnée à l'aide du compte-gouttes fourni. Ne pas diluer la suspension avant l'emploi.

Etape 3 Mélanger et incuber à 50°C pendant 4 heures avant la lecture des résultats.

Etape 4 Observer l'apparition éventuelle d'une agglutination. Il n'est pas nécessaire d'utiliser un éclairage de fond puissant.

8. RESULTATS

LECTURE DES RESULTATS

A. **Test rapide de dépistage**
Si une agglutination apparaît en une minute, un titre significatif doit être obtenu par un test de confirmation en tube. La réaction correspond approximativement à celle obtenue dans un test d'agglutination en tube[3] avec une dilution de sérum au 1/20ème. De plus faibles volumes de sérum (voir paragraphe B) peuvent être utilisés si un test de dépistage avec une sensibilité de 1/40 ou de 1/80 est nécessaire.

B. **Titration rapide sur lame**
Les réactions obtenues sont grossièrement équivalentes à celles qui auraient lieu lors d'un test d'agglutination en tube avec des dilutions sériques respectivement au 1/20ème, 1/40ème, 1/80ème, 1/160ème et 1/320ème.[3] Si une réaction est décelée, il est conseillé de la confirmer et d'établir le titre par un test en tube, bien que, avec l'expérience, cela ne devrait plus être nécessaire. Il est recommandé d'effectuer un test en tube si les résultats ne correspondent pas aux données cliniques. Si les réactifs n'atteignent pas la température ambiante (18 à 30°C) avant emploi, des résultats erronés peuvent se produire. En outre, **il est probable que les réactions soient faussement positives si le test est lu plus d'une minute après l'homogénéisation.**

C. **Agglutination en tube**
Une réaction positive se caractérise par une agglutination granulaire manifeste. Dans le cas d'une réaction négative ainsi que pour le sérum physiologique témoin, l'aspect de la suspension doit rester inchangé et un tourbillonnement typique doit être observé en donnant une chiquenaude au tube. Les tubes ne doivent pas être agités. Dans tous les cas, le titre est la dilution sérique dans le dernier tube présentant une agglutination. Une série de dilutions de l'antisérum Proteus OX2, OX19 ou OXK peut être incluse comme témoin positif pour chaque suspension.

CONTROLE QUALITE

Il est recommandé d'analyser la suspension comme cela a été décrit avec un sérum positif connu, par exemple avec l'antisérum Proteus OX2, OX19 ou OXK et avec un sérum témoin négatif, pour chaque série d'échantillons. En pratique, une série peut être définie comme une période d'analyse allant jusqu'à 24 heures. Si une suspension agglutine un sérum négatif connu ou ne donne

pas d'agglutination avec un sérum positif connu, elle doit être jetée.

Ces sérums sont des sérums non absorbés mais ne sont pas des sérums standard ; le titre obtenu n'est pas toujours le titre inscrit sur le flacon, mais il doit s'en approcher.

INTERPRETATION DES RESULTATS[1,2,4]

Les motifs d'agglutination de plusieurs rickettsioses sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2

Infection	Vecteur	Suspension de Proteus		
		OX19	OX2	OXK
Typhus épidémique	Pou	+++	+	–
Typhus murin	Puce	+++	+	–
Typhus endémique	Puce	+++	+	–
Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses	Tique	+++	+	–
Fièvre fluviale du Japon	Acarien	–	–	+++
Typhus des broussailles	Acarien	–	–	+++
Fièvre boutonneuse	Tique	+	+	+
Fièvre du Natal	Tique	+	+	+
Maladie de Brill-Zinsser	Pou	Générale-ment négatif	Générale-ment négatif	Générale-ment négatif
Fièvre des tranchées	Pou	–	–	–
Fièvre Q	Tique	–	–	–

Le taux d'agglutinines retrouvées dans le sérum de sujets « sains » peut être de 1/40 ou plus, surtout avec les suspensions Proteus OXK[5] qui peuvent donner des titres « normaux » atteignant 1/160. Un titre croissant ou décroissant est plus significatif qu'un seul titre élevé.

9. LIMITES DE LA METHODE

1. Les agglutinines ont tendance à diminuer rapidement dans les quelques mois qui suivent la guérison d'une infection et un titre élevé constitue donc un marqueur utile d'infection récente. Des réactions positives sont parfois observées dans des pathologies sans rapport avec les rickettsioses, telles que le paludisme, la mononucléose infectieuse, la brucellose, la tuberculose ou la toxicomanie. Les résultats doivent donc être évalués en fonction du contexte clinique.
2. Ne pas utiliser ce test avec des échantillons sériques inactivés.

10. RESULTATS ATTENDUS

Agglutination visible en présence d'anticorps homologues.

11. CARACTERISTIQUES SPECIFIQUES

Les motifs d'agglutination de plusieurs rickettsioses sont présentés dans le tableau 2.

12. BIBLIOGRAPHIE

1. **Felix, A.** (1944). Technique and interpretation of the Weil-Felix test in typhus fever. Trans. *Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **37**, 321.
2. **Pedersen, C.E.** (1978). *J. Amer. Med. Technol.*, **40**, 79.
3. **Huddleson, I.F. and Abell, E.** (1928). Rapid macroscopic agglutination for the serum diagnosis of Bang's Abortion disease. *J. Infect. Dis.*, **42**, 242.
4. **Wilson, G.S. and Miles, A.A.** (1975). Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity, 6th Ed., London, E. Arnold, Pages 2355-2357.
5. *Mon. Bul. Emerg. Publ. Hlth. Lab. Serv.* (1942). 1, 6.

13. CONDITIONNEMENT

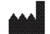
REF SS16/R30953601...5 ml
SS17/R30953701...5 ml
SS18/R30953801...5 ml

Légende des symboles

REF	Référence de catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
	Consulter le mode d'emploi
	Limite de température
LOT	Code de lot
	A utiliser avant
	Fabricant



IFU X7799A Révisé Octobre 2013



Remel Europe Ltd.
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT
Royaume-Uni

Pour tout support technique, contacter le distributeur local.